

令和元年6月12日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2016～2018

課題番号：16KT0192

研究課題名(和文) 精神疾患予測マーカーとしての脳内ペリサイトイメージング

研究課題名(英文) Pericyte imaging for the early detection of psychiatric diseases

研究代表者

宝田 剛志 (Takarada, Takeshi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・研究教授

研究者番号：30377428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、精神疾患病態として脳血管周囲に存在するペリサイトのロスを取り上げ、その分子メカニズムを体内時計ネットワークの切り口から解析するだけでなく、疾患早期診断を指向する目的で、ペリサイトを可視化させる技術を開発することをめざした。その結果、体内時計システムは、ペリサイトでのPDGFR の発現を調節し、脳血管透過性の調節を介して障害前のアストロサイト活性化状態を制御する可能性を見出した。また、脳血管ペリサイトのマーカーであるPDGFR に高親和性な化合物であるIQPを母体化合物としたPET/SPECTイメージングプローブを開発することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

精神疾患の客観的な診断マーカーが存在せず、疾病発症や病態進行の予測を行うことは難しく、治療への早期介入が難しい。この点において本研究は、ペリサイトロスが可視化可能な精神疾患マーカーである可能性を見出し、そのイメージングプローブを開発した点において、社会的意義は高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the loss of pericyte existing around the cerebrovascular in Bmal1 KO mice, and tried to develop the tools for visualizing the pericyte for the purpose of directing early detection of the disease. As a result, we have found that the circadian clock system regulates PDGFR expression in the pericyte, followed by the regulation of the astrocyte activation state through modulation of cerebral vascular permeability. In addition, we have developed a PET/SPECT imaging probe using IQP, which is a compound having high affinity to PDGFR.

研究分野：幹細胞生物学

キーワード：体内時計 グリア PET/SPECT

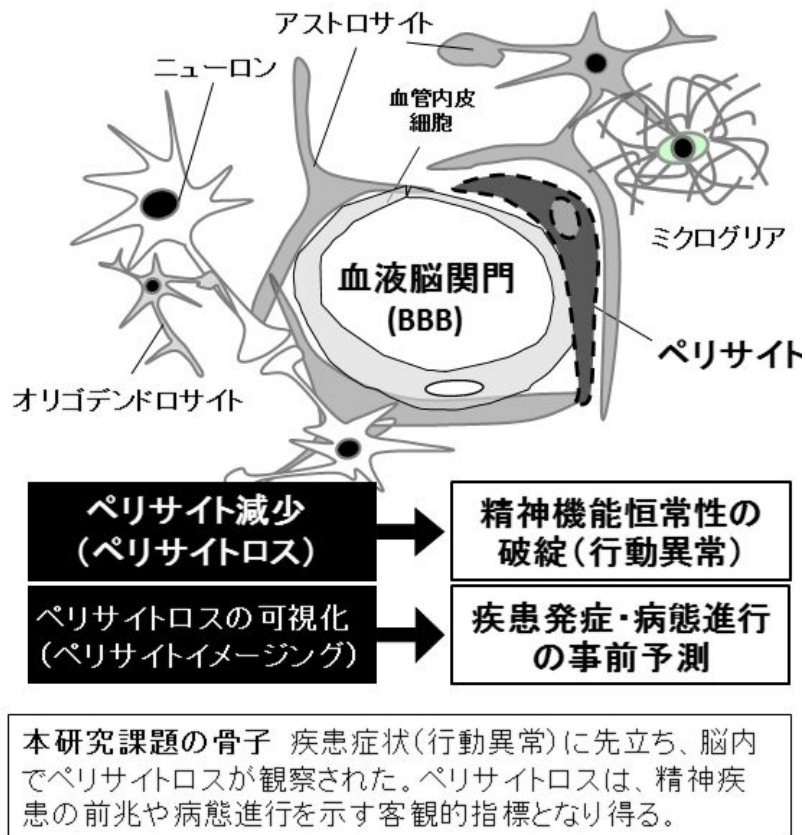
1. 研究開始当初の背景

精神疾患の生涯有病率は高く、統合失調症では約1%、うつ病等の気分障害では10%以上に至り、近年のマスメディアでの取り上げにもより、社会的関心は極めて高い。これらの精神疾患では、アルツハイマー病やパーキンソン病での神経細胞脱落のような目立った器質的所見は観察されない。また、ゲノム解析のみからでは精神病態の解明には至らず、分子、細胞、システム、回路など、複雑な素因の絡まりが最終的な精神病態を規定することが予想され、その病態メカニズムの生物学的解明はほとんど進んでいない。

このため、客観的かつ明確な診断指標が存在せず、治療薬開発段階での薬効評価という点でも困難が生じる。特に、客観的な診断マーカーが存在せず、疾病発症や病態進行の予測を行うことは不可能であり、治療への早期介入が難しい。この現状を勘案し、今求められることは、臨床適応を意識した可視化可能な精神疾患マーカーの同定である、と考えるに至った。

数多くの精神疾患には睡眠障害が併発し、実際に睡眠障害との関連性が深い体内時計システムが破綻したマウス (Bmal1 欠損マウス) では数々の行動異常がみられる。同マウスを解析したところ、行動異常に先立ち、血液脳関門 (Blood Brain Barrier; BBB) の恒常性が破綻 (血管透過性の異常亢進) していることを突き止めた。この原因を、マウス遺伝学的手法 (細胞種特異的な Cre-loxP システム) により解析したところ、行動異常に先立ち、ペリサイト (周皮細胞) が顕著に減少していることが主因である可能性を見出した。ペリサイトは、血管内皮細胞を取り巻くように存在し、血液脳関門 (BBB) 形成に重要である。つまり、ペリサイトの数的制御が破綻 (ペリサイトロス) することが、

脳微小血管恒常性の破綻につながり、精神機能の恒常性破綻を招く可能性がある。したがって、ペリサイトロスが精神疾患の前兆や、病態の進行を示す客観的指標となり得る可能性がある。



2. 研究の目的

上記研究背景に記載のとおり、精神疾患の客観的な診断マーカーが存在せず、疾病発症や病態進行の予測を行うことは難しく、治療への早期介入が難しい。この現状を勘案すると、今求められることは、臨床適応を意識した可視化可能な精神疾患マーカーの同定である。本研究では、精神疾患病態として脳血管周囲に存在するペリサイトのロスを取り上げ (同定) その分子メカニズムを体内時計ネットワークの切り口から解析し、症状との因果関係を解明する。さらに、ペリサイトを可視化させる技術を開発すること (可視化 = ペリサイトイメージング) で、疾患の早期診断への将来的応用を指向する。

3. 研究の方法

ポイント : ペリサイトロスによる精神行動異常メカニズムの解明

各種 Bmal1 conditional 欠損マウスを使用した結果から、Bmal1 欠損時の表現型 (行動異常、ペリサイトロス) が Nestin 陽性細胞に起因する結果を得ている。成体での Nestin 陽性細胞を GFP にて可視化できる Nestin-GFP マウスを利用することで、脳組織 (大脳皮質) に存在するは Nestin-GFP<sup>+</sup>PDGFR<sup>+</sup>Desmin<sup>+</sup>ペリサイトを可視化し、同細胞に注目した Bmal1 欠損における組織学的解析を実施する。また、培養ペリサイトと Bmal1 siRNA を使用することで、Bmal1 のペリサイトでの役割を解析する。

## ポイント : ペリサイト可視化技術の開発

脳血管ペリサイトのマーカーである PDGFR に高親和性な化合物である 1-[2-[5-(2-methoxyethoxy)-1H-benzo[d]imidazol-1-yl]quinolin-8-yl]piperidin-4-amine (CP-673451, IQP) を母体化合物として、IQP への <sup>125</sup>I 標識の最適化と、<sup>76</sup>Br 標識の最適化、および標識後の親和性/選択性の解析を行った。

### 4 . 研究成果

解析結果より、睡眠障害等の精神疾患との関連性が深い体内時計システムが破綻したマウス (Bmal1 欠損マウス) では、脳・脊髄組織でのアストロサイトの異常活性化が認められることが分かった。同マウスにて行動学的解析を実施した結果、多動といった精神行動異常が観察されただけでなく、神経障害性疼痛モデルを実施した結果、神経障害時におけるアロディニアが消失していた。更なる解析の結果、これらの病態は、血管周囲に存在するアストロサイト-ペリサイトアセンブリ異常による血液脳関門 (BBB) 破綻に起因することを見出した (*J Neurosci.* 37:10052-10062, 2017)。また、ペリサイトに発現する Bmal1 分子が直接 PDGFR の発現を制御することを見出した (未発表)。つまり、体内時計システムは、ペリサイトでの PDGFR の発現を調節し、脳血管透過性の調節を介して障害前のアストロサイト活性化状態を制御し、精神機能と痛みの形成過程を調節する可能性が考えられる。

脳血管ペリサイトのマーカーである PDGFR に高親和性な化合物である IQP を母体化合物として、IQP への <sup>125</sup>I 標識の最適化と、<sup>76</sup>Br 標識の最適化、および標識後の親和性/選択性の解析を行った。その結果、PDGFR へ高親和性を示す PET/SPECT イメージングプローブを開発することができた (*Bioorg Med Chem*, 25, 5576-5585., 2017; *Sci. Rep.* 8, 10369., 2018)。今後は脳への集積に関する最適化を実施するとともに、その集積の程度を Bmal1 欠損マウス脳組織にて検討する予定である。

### 5 . 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] ( 計 8 件 )

- [1] Tong Zhang, Junko Yanagida, Hironori Kamii, Shintaro Wada, Masaki Domoto, Hitoki Sasase, Satoshi Deyama, **Takeshi Takarada**, Eiichi Hinoi, Kenji Sakimura, Akihiro Yamanaka, Takashi Maejima, Michihiro Mieda, Takeshi Sakurai, Naoya Nishitani, Kazuki Nagayasu, Shuji Kaneko, Masabumi Minami and Katsuyuki Kaneda (2019) Glutamatergic neurons in the medial prefrontal cortex mediate the formation and retrieval of cocaine-associated memories in mice. *Addict Biol*, in press. doi: 10.1111/adb.12723. ( 査読あり )
- [2] Nurmaya Effendi#, Kenji Mishiro#, **Takeshi Takarada**, Daisuke Yamada, Ryuichi Nishii, Kazuhiro Shiba, Seigo Kinuya, Akira Odani, Kazuma Ogawa (2019) Design, synthesis, and biological evaluation of radioiodinated benzo[d]imidazole-quinoline derivatives for platelet-derived growth factor receptor  $\beta$  (PDGFR $\beta$ ) imaging. *Bioorg Med Chem*, 15, 383-393. ( 査読あり )
- [3] Nurmaya Effendi#, Kenji Mishiro#, **Takeshi Takarada**, Akira Makino, Daisuke Yamada, Yoji Kitamura, Kazuhiro Shiba, Yasushi Kiyono, Akira Odani, Kazuma Ogawa (2018) Radiobrominated benzimidazole-quinoline derivatives as Platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFR ) imaging probes. *Sci. Rep.* 8, 10369. ( 査読あり )
- [4] Ryota Nakazato, Kenji Kawabe, Daisuke Yamada, Shinsuke Ikeno, Michihiro Mieda, Shigeki Shimba, Eiichi Hinoi, Yukio Yoneda and **Takeshi Takarada (corresponding author)** (2017) Disruption of Bmal1 impairs blood-brain barrier integrity via pericyte dysfunction. *J. Neurosci.* 37, 10052-10062. ( 査読あり )
- [5] Nurmaya Effendi, Kazuma Ogawa, Kenji Mishiro, **Takeshi Takarada**, Daisuke Yamada, Yoji Kitamura<sup>e</sup>, Kazuhiro Shiba<sup>e</sup>, Takehiko Maeda, Akira Odani (2017) Synthesis and evaluation of <sup>125</sup>I-labeled 1-[2-[5-(2-methoxyethoxy)-1H-benzo[d]imidazol-1-yl]quinolin-8-yl]piperidin-4-amine derivatives for platelet-derived growth factor receptor  $\beta$  (PDGFR $\beta$ ) imaging. *Bioorg Med Chem*, 25, 5576-5585. ( 査読あり )

- [6] **Takeshi Takarada (corresponding author)**, Cheng Xu, Hiroki Ochi, Ryota Nakazato, Daisuke Yamada, Saki Nakamura, Ayumi Kodama, Shigeki Shimba, Michihiro Mieda, Kazuya Fukasawa, Kakeru Ozaki, Takashi Iezaki, Koichi Fujikawa, Yukio Yoneda, Rika Numano, Akiko Hida, Hajime Tei, Shu Takeda and Eiichi Hinoi (2017) Bone resorption is regulated by circadian clock in osteoblasts. *J. Bone Miner. Res.* 32, 872-881. (査読あり)
- [7] Ryota Nakazato, Shogo Hotta, Daisuke Yamada, Miki Kou, Saki Nakamura, Yoshifumi Takahata, Hajime Tei, Rika Numano, Akiko Hida, Shigeki Shimba, Michihiro Mieda, Eiichi Hinoi, Yukio Yoneda and **Takeshi Takarada (corresponding author)** (2017) The intrinsic microglial clock system regulates interleukin-6 expression. *Glia* 65, 198-208. (査読あり)
- [8] **Takeshi Takarada (corresponding author)**, Miki Kou, Miho Hida, Ryo Fukumori, Saki Nakamura, Takaya Kutsukake, Nobuyuki Kuramoto, Eiichi Hinoi and Yukio Yoneda (2016) Protective upregulation of activating transcription factor-3 against glutamate neurotoxicity in neuronal cells under ischemia. *J. Neurosci. Res.* 94, 378-388. (査読あり)

〔学会発表〕(計2件)

- [1] **宝田 剛志**：精神/疼痛の恒常性維持基盤における体内時計システムの役割、第1回感覚免疫学研究会(生理学研究所研究会) 岡崎(岡崎コンファレンスセンター)、2017年7月3日
- [2] **宝田 剛志**：血液脳関門の体内時計システムによる制御機構、第41回日本神経科学会、神戸(神戸コンベンションセンター)、2018年7月26日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：小川 数馬

ローマ字氏名：Kazuma Ogawa

所属研究機関名：金沢大学

部局名：新学術創成研究機構

職名：准教授

研究者番号(8桁): 30347471

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。